

## **ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ВВЕДЕНИЯ БЛОКАТОРА ИНДУЦИБЕЛЬНОЙ NO-СИНТАЗЫ – АМИНОГУАНИДИНА НА РАЗВИТИЕ ЛЕГОЧНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У КРЫС**

**Бонарцев А.П., Гаврилова С.А., Постников А.Б., Хропов Ю.В.,  
Медведева Н.А.**

*Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова,  
г. Москва*

### *Введение*

Легочная гипертензия (ЛГ) - тяжелое заболевание, которое характеризуется увеличением сосудистого сопротивления, уменьшением эластичности сосудистой стенки сосудов малого круга кровообращения, а также гипертрофией правого желудочка сердца. Известно, что при ЛГ происходит нарушение функций эндотелия и гладкой мускулатуры легочных сосудов. Показано уменьшение величины эндотелий-зависимого расслабления легочных сосудов (ЭЗР), что может быть связано с уменьшением синтеза и выделения эндотелиального фактора расслабления или оксида азота (NO). В норме величина ЭЗР зависит от активности конститутивной формы NO-синтазы. При различных заболеваниях сердечно-сосудистой системы нарушается нормальная работа этого фермента (из-за недостатка субстратов или коферментов), что смещает реакцию в сторону синтеза цитостатических производных кислорода или NO\*, способных вызывать повреждение как функций эндотелия, так и гладкой мышцы сосуда. Увеличение концентрации высокоактивных агрессивных соединений может наблюдаться также при активации другой формы NO-синтазы – индуцибельной (iNOS). Известно, что iNOS активируется при артериальной и легочной формах гипертензии. При избыточной активности iNOS в этом случае, NO и его производные могут нарушать систему эндотелий-зависимой NO-опосредованной регуляции сосудистого тонуса как на уровне эндотелия, так и на уровне гладкой мышцы сосуда.

В связи с вышеизложенным целью настоящей работы явилось изучение участия iNOS в развитии монокроталиновой модели ЛГ у крыс. Для этого использовалось хроническое применение селективного блокатора iNOS - амингуанидина (АГ). У экспериментальных животных оценивалась степень развития заболевания по величине систолического давления в правом желудочке и величина его гипертрофии, а также реактивность артериального давления на гипо-и-гипертензивные факторы. Для изучения механизмов наблюдаемых изменений проводили анализ активности растворимой фракции гуанилатциклазы (pGC) сосудов малого и большого кругов кровообращения.

### *Материалы и методы исследований*

Для создания патофизиологической модели ЛГ крысам линии Вистар весом 140-160 г. вводили алкалоид монокроталин (МКТ) (Sigma, USA) подкожно, в дозе 60 мг/кг (Группа МКТ). Контрольным животным вводили физ. раствор в том же объеме (Группа К). Каждую группу разделяли на 2 подгруппы (п/гр): 1-ым давали АГ (15 мг/кг/сут) в питьевой воде в течение трех недель (через неделю после инъекции) (п/гр К-АГ и МКТ-АГ), животные 2-ых подгрупп получали питьевую воду (п/гр К-К и МКТ-К).

Через 4 недели животных брали в эксперимент. У наркотизированных (этаминал-натриевый наркоз, 40 мг/кг) крыс с помощью катетера, введенного через яремную вену, измеряли систолическое давление в правом желудочке сердца (СПЖД). Кроме того, для регистрации системного артериального давления и введения веществ имплантировали катетеры в бедренные артерию и вену. Через сутки у бодрствующих животных регистрировали реакцию изменения среднего системного артериального давления ((САД) в ответ на введение донора NO и активатора рГЦ - гетероциклического фуросана, - 4,7-диметил-1,2,5-оксадиазоло[3,4-d]-пиридазин-1,5,6-триоксида (FPTO) (100 мкг/кг, внутривенно, болюсно) [1]. Регистрацию производили с помощью АЦП с записью на компьютере (частота оцифровки – 512 Гц).

Измерения индуцированной активности рГЦ проводили в легочных и системных (бедренных и сонных) сосудах у животных через 4 недели после инъекции МКТ. Активность рГЦ измеряли в гомогенатах сосудов по степени превращения  $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]\text{GTP}$  в  $[\text{}^{32}\text{P}]\text{cGMP}$  [1]. Данные по активности рГЦ представлены в виде пмоль cGMP/мин/мг белка. Сохранение белка в пробах измеряли по методу Лоури.

### *Результаты и их обсуждение*

У обработанных МКТ крыс (п/гр МКТ-К) развивалась легочная гипертензия, о чем свидетельствует повышенное СПЖД ( $76 \pm 10$  мм.рт.ст) по сравнению с животными, не обработанными МКТ (п/гр К-К), у которых СПЖД составляло  $26 \pm 2$  мм.рт.ст. ( $p < 0.05$ ). У больных животных (п/гр МКТ-К) были также изменены реакции системного АД в ответ на введение активатора рГЦ, о чем свидетельствует уменьшение реакции АД на введение FPTO по сравнению с п/гр К-К (САД равнялось соответственно  $-14.4 \pm 2.8$  и  $-23.5 \pm 3.1$  мм.рт.ст.,  $p < 0.05$ ). Исследования активности рГЦ в сосудах показали, что повышение СПЖД и снижение реакций АД у крыс с ЛГ сопровождалось снижением активности рГЦ как в легочных, так и в системных сосудах. В легочных сосудах у больных животных активность рГЦ в п/гр МКТ-К равнялась  $15 \pm 2$  пмоль cGMP/мг белка/мин, что было снижено по сравнению с активно-

стью рГЦ контрольной группе животных (п/г К-К -  $40 \pm 10$  пмоль сGMP/мг белка/мин) ( $p < 0.05$ ). Аналогично, активность рГЦ в системных сосудах животных из п/гр МКТ-К была также достоверно ниже, чем активность рГЦ у крыс из п/гр К-К ( $36 \pm 4$  и  $74 \pm 10$  пмоль сGMP/мг белка/мин, соответственно,  $p < 0.05$ ).

Хроническое введение блокатора iNOS приводило к тому, что СПЖД в п/гр МКТ-АГ снизилось по сравнению с п/гр МКТ-К ( $47 \pm 5$  и  $76 \pm 10$  мм.рт.ст, соответственно,  $p < 0.05$ ); реакции АД на введение активатора рГЦ восстановились, на что указывает достоверное отличие  $\Delta$ САД в ответ на введение FPTO животным из п/гр МКТ-АГ от  $\Delta$ САД животных из п/гр МКТ-К ( $-29.8 \pm 2.8$  и  $-14.4 \pm 2.8$  мм.рт.ст., соответственно,  $p < 0.05$ ). Частичное восстановление физиологических показателей у больных животных в результате введения АГ сопровождалось относительным восстановлением активности рГЦ. Так, в легочных сосудах у животных, потреблявших АГ (п/гр МКТ-АГ) активность рГЦ была достоверно выше, чем в тех сосудах больных животных не потреблявших АГ (п/гр МКТ-К) ( $-36 \pm 1$  и  $15 \pm 2$  пмоль сGMP/мг белка/мин, соответственно,  $p < 0.05$ ). Активность рГЦ в п/гр МКТ-АГ не отличалась от активности рГЦ в п/гр К-К. В системных сосудах активность рГЦ у больных животных, получавших АГ, не отличалась от активности рГЦ у нормотензивных животных, получавших АГ (п/гр МКТ-АГ и К-АГ:  $48 \pm 11$  и  $51 \pm 7$  пмоль сGMP/мг белка/мин, соответственно).

Результаты нашего исследования могут свидетельствовать о том, что при ЛГ снижены дилататорные реакции АД, что сопровождается пониженной активностью рГЦ как в легочных, так и в системных сосудах больных животных. Хроническое введение избирательного блокатора iNOS, АГ, хотя не вызывает полного восстановления всех физиологических показателей, но приводит к снижению СПЖД и восстановлению реакций АД в ответ на введение активатора рГЦ. Улучшение физиологических показателей у крыс, подвергшихся действию АГ, подтверждается частичным восстановлением активности рГЦ в легочных и системных сосудах. Это может указывать на частичное восстановление функционирования системы эндотелийзависимого рГЦ опосредованного расслабления сосудов, поврежденной из-за повышенной активности iNOS.

### *Литература*

1. A.Ya. Kots, M.A. Grafov, Y.V. Khropov, V.L. Betin, N.N. Belushkina, O.G. Busygina, M.Yu. Yazykova, I.V. Ovchinnikov, A.S. Kulikov, N.N. Makhova, N.A. Medvedeva, T.V. Bulargina, I.S. Severina. Vasorelaxant and antiplatelet activity of 4,7-dimethyl-1,2,5-oxadiazolo[3,4-d]pyridazine 1,5,6-trioxide: role of soluble guanylate cyclase, nitric oxide and thiols // British Journal of Pharmacology. - 2000. - 129:6. - С. 1163-1177.